



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

ANATOMICKÝ ÚSTAV
128 00 PRAHA 2, U NEMOCNICE 3
TEL: 224 965 780 FAX / ZÁZNAM: 224 965 770
E-MAIL: anat@lf1.cuni.cz
PŘEDNOSTA: PROF. MUDR. MILOŠ GRIM, DRSC.

Oponentský posudek

disertační práce „Autoimunitní poškození ovaria u dospívajících dívek, vliv antiovariálních protilátek na poruchy menstruačního cyklu a fertilitu“, kterou k obhajobě titulu PhD. v oboru Experimentální chirurgie předložila MUDr. Hana Kosová, Gynekologicko-porodnická klinika, 2. lékařská fakulta UK a FNM.

Práci tvoří 77 stran textu, 7 tabulek, 17 grafů, 28 přiložených obrázků a seznam publikací a presentací autorky. Přiloženy jsou kopie 2 publikací a text další práce přijaté k publikaci. Dvě z těchto prací byly publikovány v časopisech s IF (1,047 a 1,47), u jedné z nich je Dr. Kosová prvním autorem. Poznátky obsažené v uvedených publikacích jsou integrovány do textu disertace.

Text disertace je členěn do 11ti kapitol. V kapitole nazvané Teoretická část je na základě 121 citací uveden současný stav poznatků o studované problematice. Z jejího kritického rozboru jsou v závěru této kapitoly formulovány cíle práce: zmapovat výskyt antiovariálních protilátek specifických proti zárodečným buňkám a buňkám produkujícím steroidy u dívek a žen sledovaných pro poruchy cyklu, sterilitu a infertilitu. V případech indikovaných k bioptickému vyšetření sledovat také morfologické změny v ovariu. Mám určitou výhradu k části textu věnované obecně imunologické problematice: je příliš závislá na publikaci uvedené v seznamu použité literatury pod č. 1.

Metodický přístup je založen a) na imunohistochemickém znázornění vazby antiovariálních protilátek k jednotlivým strukturám ovaria laboratorního potkana v histologických řezech; b) na morfologické a imunohistochemické analýze vzorků získaných při laparoskopických biopsiích se zaměřením na detekci apoptózy, steroidních receptorů a endotelové NO syntázy.

Jde tedy o komplexní přístup k problematice, která je na pracovištích obou školitelů disertantky studována od r. 1992. Je to významné téma, neboť ovariální homeostáza vyžaduje přesnou integraci pro- a anti-apoptických faktorů a antiovariální protilátky jsou jedním z faktorů této signalizace. Poznání mechanismů apoptotické signalizace v ovariu a role, kterou v ní hrají antiovariální protilátky, je proto předpokladem pro racionální přístup k prevenci a léčbě neplodnosti.

Disertační práce ukazuje, že výskyt antiovariálních protilátek koreluje s narušením reprodukčních funkcí ovaria. Substituční hormonální terapií se podařilo dosáhnout úpravy těchto funkcí a zároveň byl zjištěn pokles výskytu antiovariálních protilátek. Vzhledem ke zkřížené reaktivitě lidských protilátek a ovariálních buněk potkana bylo možné identifikovat v řezech ovariem struktury, proti nimž byly studované protilátky vytvořeny.

Obrazová dokumentace obsahuje mikrofotografie kryostatových, parafinových a eponových řezů a elektronogramy z ovarí laboratorních potkanů a ze vzorků z lidských ovarí. Tyto obrázky dokumentují vazebné vlastnosti sérových protilátek, mononukleární infiltraci ovaria, apoptózu buněk folikulárního aparátu a výskyt FSH a steroidních receptorů. Jde o velmi kvalitní mikrofotografie (17, 24, 25) i obrázky se sníženou ostroť (18, 19, 27). Většina obrázků z fluorescenčního mikroskopu má však příliš vysoký signál pozadí (2, 5, 9, 10, 13, 26). V obr. 26 je navíc signál průkazu štěpeného K 18 patrný i ve Slavjanského membráně. Lepšího rozlišení jader bylo možné dosáhnout složenými snímky, kde by jádra byla znázorněna např. pomocí DAPI. Na obr. 27 je v textu chybně odkazováno jako na obr. 28. Rovněž obr. 10 a 11 jsou na str. 53 chybně citovány.

Mám výhrady k formálnímu zpracování disertace. Text je nepřehledný, neboť je nedostatečně členěn. Chybí tematické členění jednotlivých kapitol a přehlednější grafická úprava. Překvapuje nebývale vysoký počet překlepů. Některé se vyskytují opakovaně a mění smysl slov (denní místo denzní, izotop místo izotyp, dusný místo dusnatý, NO syntéza místo NO syntáza nebo syntetáza). Zřejmě nebyla ve Wordu vypnuta automatická kontrola pravopisu a napsaný text nebyl následně zkontrolován.

Otázky na autorku disertace:

Existují experimentální modely, které by pomohly řešit otázku, do jaké míry je tvorba antiovariálních protilátek příčinou nebo jen indikátorem ovariální dysfunkce?

V disertaci je věnována velká pozornost detekci apoptózy v buňkách folikulárního aparátu, kde je apoptóza fyziologickou součástí atrézie folikulů. Je na základě Vašeho pozorování možné konstatovat zvýšenou frekvenci apoptózy v bioptických vzorcích od pacientek s antiovariálními protilátkami?

V publikaci citované u č. 121 je uvedeno, že sledování sedimentace erytrocytů je důležité pro monitorování aktivity autoimunitních chorob. Jaké jsou Vaše poznatky o významu tohoto parametru?

Závěr

Protože disertace představuje významný příspěvek k poznání významu antiovariálních protilátek pro homeostázu ovariálních struktur a funkcí a protože tyto poznatky mají význam pro klinickou praxi, doporučuji přiznat autorce titul PhD. v oboru experimentální chirurgie.

Miloš Grim

Praha, 6. května 2006